

徐鹏, 赵建珍, 闫伟伟, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 289-295. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020060021

XU Peng, ZHAO Jianzhen, YAN Weiwei, et al. Determination of 9 Strobilurin Fungicides in Vegetables by QuEChERS-Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 289-295. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020060021

· 分析检测 ·

# QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂

徐 鹏, 赵建珍, 闫伟伟, 陈佳琛\*, 罗慧玉, 刘 慧  
(张家口市食品药品检验中心, 河北张家口 075000)

**摘 要:**建立了采用 QuEChERS 方法提取净化, 超高效液相色谱-串联质谱法 (UPLC/MS/MS) 同时测定蔬菜中的 9 种甲氧基丙烯酸酯 (Z-苯氧菌酯、E-苯氧菌酯、啞菌酯、肟菌酯、醚菌酯、啞氧菌酯、吡唑醚菌酯、肟菌酯、啞菌酯) 杀菌剂残留量的方法。样品经乙腈提取, 采用正交试验优选 N-丙基乙二胺 (PSA) 和 C<sub>18</sub> 以及石墨化炭黑 (GCB) 净化用量。使用 0.05% 甲酸水和 0.05% 甲酸乙腈作为流动相梯度洗脱, 目标化合物经岛津 Shim-PackC<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm×50 mm, 2 μm) 分离, 在正离子模式下进行测定。结果表明, 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂在 1~100 ng/mL 范围内线性关系良好, 决定系数在 0.9942~0.9995 之间, 方法检出限 (LOD) 为 0.05~0.3 μg/kg, 定量限 (LOQ) 为 0.2~0.9 μg/kg。在 2、10 和 20 μg/kg 三个添加水平下, 五种蔬菜的回收率在 77.26%~111.73% 之间, 相对标准偏差在 0.46%~6.59% 之间。该方法准确、快速、便捷、灵敏度高, 能够满足蔬菜中 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的痕量检测要求。

**关键词:**超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC/MS/MS), QuEChERS, 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂, 正交试验, 蔬菜

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)07-0289-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020060021

## Determination of 9 Strobilurin Fungicides in Vegetables by QuEChERS-Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

XU Peng, ZHAO Jianzhen, YAN Weiwei, CHEN Jiachen\*, LUO Huiyu, LIU Hui

(Zhangjiakou Institute for Food and Drug Control, Zhangjiakou 075000, China)

**Abstract:** The method was established for the nine strobilurin fungicides in vegetables by using QuEChERS method. The samples were extracted with acetonitrile and purified with n-propyl-ethylenediamine (PSA), C<sub>18</sub> and graphitized carbon black (GCB) by orthogonal test. Using 0.05% formic acid water and 0.05% formic acid acetonitrile as mobile phase gradient elution, the target compounds were separated by Shimadzu shim pack C<sub>18</sub> column (2.1 mm×50 mm, 2 μm) and determined in positive ion mode. The linear relationship of 9 strobilurin fungicides was good in the range of 1~100 ng/mL, the coefficient of determination was between 0.9942~0.9995. The LOD was 0.05~0.3 μg/kg and the LOQ was 0.2~0.9 μg/kg. At the levels of 2, 10 and 20 μg /kg, the recovery rates of the five vegetables were 77.26%~111.73%, and the relative standard deviation was 0.46%~6.59%. The method is accurate, rapid, convenient and sensitive, which can meet the requirements of trace detection of nine strobilurin fungicides in vegetables.

**Key words:** ultra-high performance liquid chromatography -tandem mass spectrometry(UPLC/MS/MS); QuEChERS; strobilurin fungicides; orthogonal test; vegetables

收稿日期: 2020-06-03

作者简介: 徐鹏 (1984-), 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: 413328944@qq.com.

\* 通信作者: 陈佳琛 (1984-), 男, 硕士, 主管药师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: ameng1026.@163.com.

蔬菜在种植生长过程中容易受到病虫、杂草的影响,因此,为了提高产品产量和质量,农药的使用不可避免<sup>[1]</sup>。近年来,农药残留问题成为最受关注的食品安全问题之一,世界主要国家和组织都规定了多种农药的最大残留限量以保证消费者的身体健康<sup>[2-3]</sup>。为了监控蔬菜中的农药残留,我国在 GB 2763-2019《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》<sup>[4]</sup>中全文规定了食品中 483 种农药 7107 项最大残留限量,该标准大大丰富了农药残留的涵盖范围,对规范农药的使用发挥了积极作用。

甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂是一类广谱、高效、促生的新型仿生型杀菌剂,对子囊菌纲、半知菌纲和卵菌纲等真菌引起的病害有高效的杀菌活性,被大量用于防治果蔬病害,已成为继苯丙咪唑类和三唑类杀菌剂之后极具市场的一类杀菌剂<sup>[5-6]</sup>。从近几年全球甲氧基丙烯酸酯类农药的销售额以及农药单位面积施用量来看,排在前三位的药物分别为嘧菌酯、吡唑醚菌酯以及肟菌酯<sup>[7]</sup>。目前蔬菜中农药残留检测的样品前处理方法有固相萃取法<sup>[8]</sup>、固相微萃取法<sup>[9]</sup>、QuEChERS 方法<sup>[10-12]</sup>、GPC 法等,其中 QuEChERS 方法相对固相萃取、固相微萃取、GPC 等方法具有快速、简单、廉价、有效、可靠、安全等特点。关于甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的残留检测方法有气相色谱法、气相色谱-质谱法和液相色谱-质谱法<sup>[13-18]</sup>。GB 23200.54-2016 也使用气相色谱-质谱法测定了 11 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂<sup>[19]</sup>。但该方法前处理采用 GPC 提取净化,前处理时间较长,有机溶剂使用量大,成本高,环境不友好,不适合大批量样品的定性和定量分析。

本研究以 QuEChERS 前处理方法为基础,通过正交试验优选 N-丙基乙二胺(PSA)、C<sub>18</sub> 以及石墨化炭黑(GCB)的组合用量,既达到良好的净化效果,又保证目标化合物的较高提取效率,同时结合 UPLC-MS/MS 建立一种简单、快速、灵敏度较高的检测蔬菜中 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的方法,以期评估蔬菜中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的残留量提供可靠的技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

蔬菜样品 25 批,结球甘蓝 6 批、芹菜 5 批、土豆 6 批、菠菜 4 批、甜椒 4 批 均购自本地超市;甲酸、乙腈 HPLC 级,赛默飞世尔科技有限公司;N-丙基乙二胺(PSA, 40~60 mm)、C<sub>18</sub>(40 mm)、石墨化炭黑(GCB, 38~120 μm) 天津博纳艾杰尔科技公司;9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂标准品(纯度均大于 99%) 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。

LC-30AD 超高效液相色谱仪 日本岛津公司;SCIEX Triple Quad™5500 质谱联用仪 美国 AB SCIEX;Shim-PackC<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 2 μm)

日本岛津公司;MEGAFUGE-8R 型高速冷冻离心

机 美国 Thermo Fisher 公司;LPVERTEXMIXER-4KT18003 型漩涡振荡器 上海一恒科学仪器有限公司;HSC-B 型氮吹浓缩仪 天津恒奥科技发展有限公司;CPA225D 精密分析电子天平 德国赛多利斯公司;移液器 美国 Thermo Fisher 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制 分别准确称取 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂标准品各 10.0 mg,用乙腈定容至 100 mL,配制成浓度均为 100 μg/mL 的储备液,密封后避光储存于 4 ℃ 冰箱中,备用。

1.2.2 样品的制备、提取和净化 取蔬菜样品,切碎,用捣碎机捣碎成浆状,混匀,装入样品袋,标记,密封备用。准确称取样品 10 g(精确至 0.001 g),置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 乙腈、4 g 硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠、0.5 g 柠檬酸氢二钠,立即漩涡混匀 1 min 后超声提取 10 min,以 8000 r/min 离心 10 min,取 5 mL 上清液于含有 900 mg 硫酸镁、200 mg PSA,150 mg C<sub>18</sub>,15 mg 石墨化炭黑的 15 mL 离心管中,漩涡净化 1 min 后以 5000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,待上机测定。

1.2.3 超高效液相色谱-质谱条件 超高效液相色谱:岛津 Shim-PackC<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 2 μm);柱温:40 ℃;进样体积:2 μL;流速:0.3 mL/min;流动相 A 为 0.05%(v/v)甲酸水溶液,流动相 B 为 0.05%(v/v)甲酸乙腈溶液;梯度洗脱程序:0~0.9 min, 5%B;1~10.9 min, 95%B;11~12.5 min, 95%B;12.6~13 min, 5%B。

质谱条件:离子源:电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI);监测扫描方式:多反应监测模式(multiple reaction monitoring mode, MRM),扫描模式:正离子扫描;离子源温度:600 ℃;喷雾电压为 5500 V;气帘气、雾化气、碰撞气和辅助气均为氮气;压力分别为 35、8、55、50 Psi。

### 1.3 数据处理

采用统计软件 SPSS 24.0 和 AB5500 超高效液相色谱-串联质谱联用仪配备的定量分析软件对检测结果进行数据处理分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 超高效液相色谱-质谱条件的优化

2.1.1 超高效液相色谱条件优化 本实验比较了水-甲醇、水-乙腈、0.1% 甲酸水-乙腈和 0.05% 甲酸水-0.05% 甲酸乙腈做为流动相洗脱系统时,对各目标化合物的分离效果的影响。结果显示在正离子扫描模式下,当流动相系统为 0.1% 甲酸水-乙腈和 0.05% 甲酸水-0.05% 甲酸乙腈时,各目标化合物分离效果及响应值较好;而当选取 0.05% 甲酸水-0.05% 甲酸乙腈做为流动相时,在梯度洗脱过程中,流动相系统 pH 变化相对较小,同时因为甲酸的作用,增加了正离子目标化合物的响应值,改善了峰型,故选用 0.05%

甲酸水-0.05% 甲酸乙腈作为流动相。9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂混和标准品溶液总离子流图如图 1 所示。

**2.1.2 质谱条件优化** 在质谱模式下,采用针泵进样,对每种目标化合物单一标准溶液进行一级质谱全扫描,确定各分子离子,然后以分子离子为母离子进行二级质谱全扫描,选择质荷比较大、强度较高、干扰较小的两个离子分别作为子离子,其中强度较高的子离子作为定量离子,并优化各目标化合物的分子离子和子离子所需的最佳去簇电压和碰撞能量。质谱参数见表 1。

## 2.2 净化条件优化单因素实验

蔬菜中含有大量的叶绿素、叶黄素等天然色素,不仅会影响被测化合物的峰型产生基质干扰,也会影响仪器的使用寿命,因此有效地去除天然色素是蔬菜样品前处理过程中的重要环节。目前,QuEChERS 方法的吸附净化剂主要包括:PSA、C<sub>18</sub> 和石墨化炭黑<sup>[20]</sup>。PSA 可有效去除极性色素、有机酸、脂肪酸以及一些糖类物质的干扰,同时能起到螯合剂的作用。C<sub>18</sub> 可去除一些非极性干扰物,如花青素、酯类等。而石墨化炭黑可有效去除天然色素,但由于其平面六元环状片层结构,会对一些平面及对称结构的物

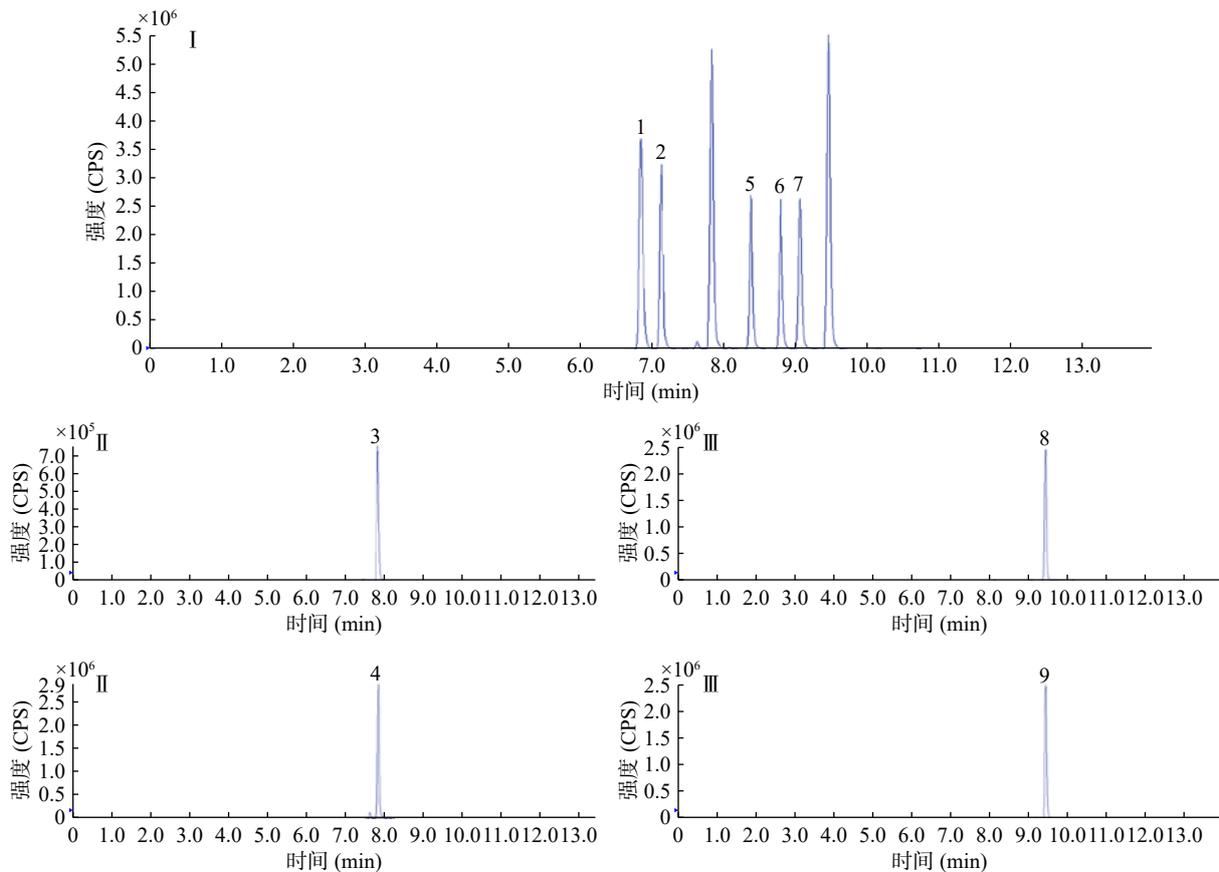


图 1 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂标准物质离子流色谱图

Fig.1 Ion current chromatogram of 9 strobilurin fungicides standard solution

注: I 图为 9 种物质 TIC 图; II 图为嘧菌酯、肟醚菌胺 EIC 图; III 图为肟菌酯、嘧啶酯 EIC 图。1: Z-苯氧菌酯; 2: E-苯氧菌酯; 3: 嘧菌酯; 4: 肟醚菌胺; 5: 醚菌胺; 6: 啉氧菌酯; 7: 吡唑醚菌酯; 8: 肟菌酯; 9: 嘧啶酯。

表 1 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂质谱检测参数

Table 1 Mass spectrum parameters of 9 strobilurin fungicides

序号	目标物质	保留时间T <sub>r</sub> (min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压DP(V)	碰撞能量CE(eV)
1	Z-苯氧菌酯	6.84	285.1	196.3 <sup>*</sup> , 167.1	55	22 <sup>*</sup> , 49
2	E-苯氧菌酯	7.12	285.1	194.2 <sup>*</sup> , 196.2	90	27 <sup>*</sup> , 21
3	嘧菌酯	7.81	404.1	329.2 <sup>*</sup> , 344.0	56	40 <sup>*</sup> , 34
4	肟醚菌胺	7.83	392.2	116.0 <sup>*</sup> , 170.0	60	38 <sup>*</sup> , 19
5	醚菌胺	8.36	327.1	116.2 <sup>*</sup> , 205.2	105	30 <sup>*</sup> , 12
6	啉氧菌酯	8.77	368.1	145.2 <sup>*</sup> , 115.2	110	32 <sup>*</sup> , 64
7	吡唑醚菌酯	9.04	388.2	163.3 <sup>*</sup> , 149.2	55	32 <sup>*</sup> , 43
8	肟菌酯	9.43	409.2	186.1 <sup>*</sup> , 206.2	74	24 <sup>*</sup> , 47
9	嘧啶酯	9.44	427.2	145.2 <sup>*</sup> , 205.3	88	32 <sup>*</sup> , 12

注: \*定量离子。

质产生吸附作用,故石墨化炭黑的用量成为去除色素和提高回收率的关键<sup>[21]</sup>。本文以结球甘蓝作为研究对象,选取无水硫酸镁 900 mg,分别对石墨化炭黑、PSA 和 C<sub>18</sub> 的加入量进行单因素实验,以空白基质加标回收率为指标,选取最佳的试剂使用量。当固定 PSA 为 100 mg 与 C<sub>18</sub> 为 100 mg 时,考察石墨化炭黑用量,结果如图 2 所示:九种化合物加标回收率在石墨化炭黑加入量为 15 mg 时均出现最大值;在固定石墨化炭黑为 15 mg, C<sub>18</sub> 为 100 mg 时,考察 PSA 用量,结果如图 3 所示:啞菌酯等七种化合物在 PSA 加入量为 200 mg 时出现最大值,而 E-苯氧菌酯和脲醚菌胺加标回收率在 PSA 加入量为 250 mg 时出现最大值,但其回收率与 200 mg 相比变化不大,考虑到节省资源,减少污染,故最终确定 PSA 加入量为 200 mg 为最佳单因素实验条件;在固定石墨化炭黑为 15 mg, PSA 加入量为 200 mg 后考察 C<sub>18</sub> 的最佳加入量,试验结果如图 4 所示:除啞菌酯外其余八种化合物加标回收率均在 C<sub>18</sub> 的加入量为 200 mg 时达到最佳,而啞菌酯在 150 和 200 mg 时加标回收率变化不是很明显,综合考虑确定最佳单因素实验条件为加入 C<sub>18</sub> 200 mg。

### 2.3 正交试验优化吸附净化剂的用量

正交试验可在单因素实验的基础上,综合有效

地评估各净化吸附剂之间的交互作用的大小,优化吸附剂用量,提高回收率<sup>[22]</sup>。本试验以结球甘蓝空白基质加标回收率为指标,对石墨化炭黑添加量(A)、C<sub>18</sub> 添加量(B)、PSA 添加量(C)3 个因素进行考察,各因素均确定 3 个水平,因素与水平见表 2,正交试验结果见表 3。由表 3 可知,Z-苯氧菌酯的最优净化组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>;吡啶醚菌酯的最优净化组合为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>;其余七种化合物的最优净化条件均为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>,故综合考虑,确定最优净化组合为 A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>,即净化剂的配比为石墨化炭黑的质量为 15 mg, C<sub>18</sub> 的质量为 150 mg, PSA 的质量为 200 mg。

### 2.4 基质效应

基质效应(ME)指样品处理过程中除目标化合物外,其他组分对定量分析准确性和重现性的影响<sup>[23]</sup>。本研究采用提取后加入法和绝对基质相应法来评价基质效应<sup>[24-25]</sup>,通过测定各目标化合物在基质匹配校准溶液中的斜率 K<sub>m</sub> 及其在溶剂校准曲线中的斜率 K 采用公式:

$$ME(\%) = \left| \frac{K_m}{K} - 1 \right| \times 100$$

当 0<ME≤20% 时,为弱基质效应,当 20%<ME≤50% 时,为中等基质效应,当 ME>50% 时,为强基质效应。由于不同蔬菜基质不同,因此可能呈现

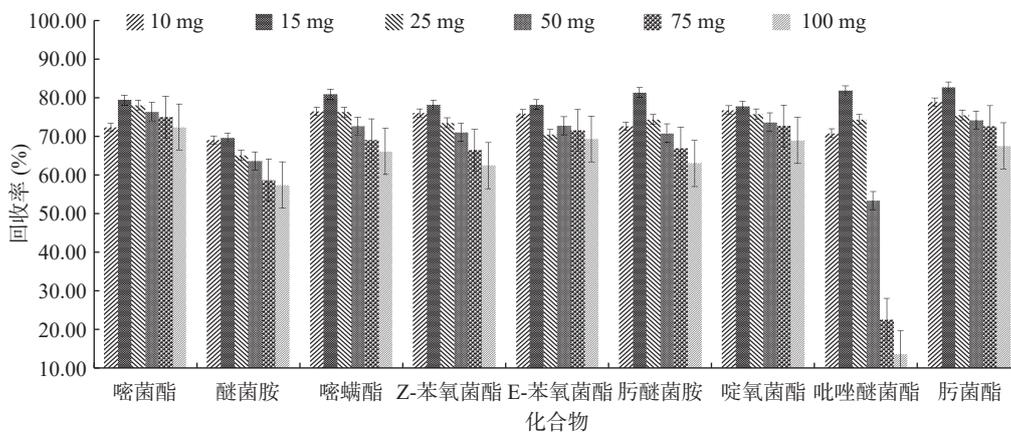


图 2 石墨化炭黑添加量对加标回收率的影响

Fig.2 Effect of GCB addition on recovery rate of standard addition

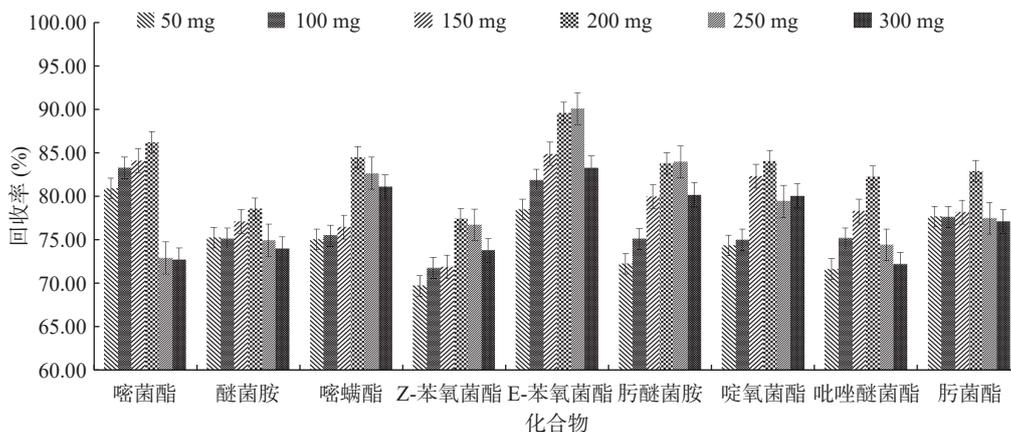


图 3 PSA 添加量对加标回收率的影响

Fig.3 Effect of PSA addition on recovery rate of standard addition

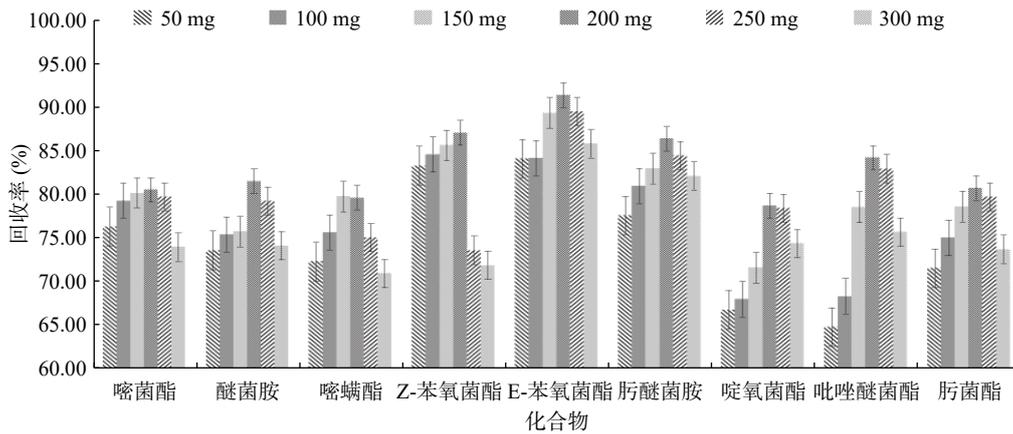


图 4 C<sub>18</sub> 添加量对加标回收率的影响

Fig.4 Effect of C<sub>18</sub> addition on recovery rate of standard addition

表 2 正交试验因素水平表

Table 2 Factors and levels table of orthogonal experiment

水平	因素		
	A 石墨化炭黑添加量(mg)	B C <sub>18</sub> 添加量(mg)	C PSA添加量(mg)
1	10	150	150
2	15	200	200
3	25	250	250

不同的基质效应。本试验选择芸薹属类蔬菜中的结球甘蓝,叶菜类蔬菜中的芹菜、菠菜,茄果类蔬菜中的甜椒,根茎类蔬菜中的土豆为代表物,对待测物的基质效应做进一步评价。参照 1.2.2 中样品提取和

净化条件,分别提取空白基质溶液。用丙酮和空白基质溶液分别配制相同浓度的工作液,照 1.2.3 中的条件进行分析测定。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制基质匹配校准曲线和溶剂校准曲线,并计算基质效应。结果表明对于五种蔬菜,9 种目标化合物的基质效应均在 0.48%~10.32% 之间,见表 4,表明本方法抗基质干扰能力强,具有良好的适用性。

### 2.5 方法的线性范围和检出限

采用优化后的提取和净化方法,将配制的工作液用处理后的空白结球甘蓝基质逐级稀释,配制成系列曲线工作液(1、5、10、30、50、80、100 ng/mL)。以浓度为横坐标,相应的峰面积为纵坐标,绘制基质

表 3 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计与结果

Table 3 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	回收率(%)								
					Z-苯氧菌酯	E-苯氧菌酯	啞菌酯	肟醚菌胺	醚菌胺	啞氧菌酯	吡唑醚菌酯	肟菌酯	啞螨酯
1	1	1	1	1	90.63	92.85	68.24	80.85	83.90	76.80	84.67	72.76	74.52
2	1	2	2	2	93.87	91.07	82.09	84.63	89.44	88.23	93.21	91.07	78.49
3	1	3	3	3	98.07	92.68	72.43	85.04	87.14	75.60	81.44	71.99	71.05
4	2	1	2	3	92.47	97.64	94.14	93.05	94.27	90.07	97.49	96.03	89.98
5	2	2	3	1	94.77	91.82	82.44	78.13	84.81	76.90	91.10	81.08	79.07
6	2	3	1	2	96.57	93.53	92.95	89.02	91.35	85.93	96.95	95.13	88.86
7	3	1	3	2	96.20	93.70	94.03	92.85	93.78	88.70	95.02	96.16	88.92
8	3	2	1	3	94.10	92.61	81.82	82.97	85.13	71.57	73.44	80.92	78.90
9	3	3	2	1	94.37	95.89	75.29	79.43	83.06	76.97	68.94	86.88	78.20
					Z-苯氧菌酯			E-苯氧菌酯			啞菌酯		
k <sub>1</sub>	94.19	93.10	93.77	93.26	92.20	94.73	93.00	93.52	74.25	85.47	81.00	75.32	
k <sub>2</sub>	94.60	94.24	93.57	95.54	94.33	91.83	94.87	92.77	89.84	82.12	83.84	89.69	
k <sub>3</sub>	94.89	96.33	96.34	94.88	94.07	94.03	92.73	94.31	83.71	80.22	82.97	82.79	
R	0.70	3.23	2.78	2.29	2.13	2.90	2.13	1.54	15.59	5.25	2.84	14.37	
					肟醚菌胺			醚菌胺			啞氧菌酯		
k <sub>1</sub>	83.51	88.92	84.28	79.47	86.83	90.65	86.79	83.92	80.21	85.19	78.10	76.89	
k <sub>2</sub>	86.73	81.91	85.70	88.83	90.14	86.46	88.92	91.52	84.30	78.90	85.09	87.62	
k <sub>3</sub>	85.08	84.50	85.34	87.02	87.32	87.18	88.58	88.85	79.08	79.50	80.40	79.08	
R	3.22	7.01	1.42	9.36	3.31	4.19	2.13	7.60	5.22	6.29	6.99	10.73	
					吡唑醚菌酯			肟菌酯			啞螨酯		
k <sub>1</sub>	86.44	92.39	85.02	81.57	78.61	88.32	82.94	80.24	74.69	84.48	80.76	77.26	
k <sub>2</sub>	95.18	85.91	86.55	95.06	90.75	84.35	91.33	94.12	85.97	78.82	82.22	85.42	
k <sub>3</sub>	79.13	82.44	89.18	84.12	87.99	84.67	83.08	82.98	82.01	79.37	79.68	79.98	
R	16.05	9.95	4.17	13.49	12.14	3.97	8.39	13.88	11.28	5.66	2.54	8.16	

表4 五种蔬菜基质中目标化合物的基质效应

Table 4 Matrix effects of target compounds in five vegetable matrices

化合物	结球甘蓝(%)	芹菜(%)	土豆(%)	菠菜(%)	甜椒(%)
Z-苯氧菌酯	3.57	4.75	4.72	10.32	9.64
E-苯氧菌酯	3.34	3.17	3.55	9.83	8.56
嘧菌酯	1.75	8.52	0.48	8.65	9.28
肟菌胺	2.22	5.01	1.59	6.02	5.46
醚菌胺	2.32	4.35	2.14	5.48	6.15
啶氧菌酯	4.22	6.93	0.84	7.69	8.92
吡唑醚菌酯	1.68	1.06	0.64	1.98	2.56
肟菌酯	3.33	4.29	1.43	5.96	7.06
啶螨酯	2.67	5.10	5.17	7.05	6.47

匹配校准曲线,如表5所示。9种杀菌剂在1~100 ng/mL范围内线性关系良好,决定系数( $R^2$ )为0.9942~0.9995。在空白结球甘蓝基质样品中进行低浓度加标试验,直到目标化合物浓度添加量至信噪比为3和10,获得方法检出限(LOD)为0.05~0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限(LOQ)0.2~0.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.6 加标回收率和精密度

以空白基质加标回收率表示方法的准确度,以回收率的相对标准偏差(RSD)表示方法的精密度。从市场采集多份蔬菜样品,用建立的方法筛选未检出9种目标化合物的结球甘蓝、芹菜、土豆、菠菜和

表5 9种化合物线性方程,决定系数( $R^2$ ),检出限(LOD)和定量限(LOQ)

Table 5 Linear equations, coefficient of determination ( $R^2$ ), LODs and LOQs of 9 compounds

目标物质	线性方程	决定系数	检出限( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	定量限( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Z-苯氧菌酯	$y=100,219.0501x+51,284.8161$	0.9991	0.15	0.50
E-苯氧菌酯	$y=53,859.4119x+14,999.3830$	0.9995	0.20	0.80
嘧菌酯	$y=41,170.2605x+120,443.4204$	0.9944	0.10	0.40
肟菌胺	$y=187,710.1702x+92,889.3903$	0.9990	0.05	0.20
醚菌胺	$y=55,222.1053x+70,096.5474$	0.9986	0.20	0.80
啶氧菌酯	$y=70,299.3601x+97,840.9736$	0.9968	0.20	0.80
吡唑醚菌酯	$y=90,337.4115x+234,830.0023$	0.9969	0.30	0.90
肟菌酯	$y=119,296.1178x+450,553.4013$	0.9942	0.08	0.30
啶螨酯	$y=70,929.2037x+180,603.8167$	0.9970	0.20	0.80

甜椒为空白基质,选择三个不同添加水平测定,按1.2.2条件进行样品制备,按1.2.3条件分析测定,并将峰面积带入工作曲线方程计算回收率和相对标准偏差。如表6所示,在2、10和20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个添加水平下,五种蔬菜的空白基质加标回收率在

表6 平均回收率和平均相对标准偏差(n=7)

Table 6 Average recovery rates and RSDs (n=7)

目标物质	添加水平( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	结球甘蓝		芹菜		土豆		菠菜		甜椒	
		平均回收率(%)	相对标准偏差(%)								
Z-苯氧菌酯	2	89.70	0.87	107.19	3.83	92.05	3.97	105.32	4.02	90.08	2.01
	10	82.04	1.25	86.48	2.60	96.67	1.17	87.56	2.93	86.59	1.63
	20	98.93	0.70	84.51	1.86	108.06	1.49	86.06	2.01	93.52	1.56
E-苯氧菌酯	2	84.39	2.89	111.73	3.61	82.80	1.63	106.97	5.06	84.29	2.05
	10	87.63	0.46	91.69	3.64	92.29	1.33	95.21	3.59	90.64	1.32
	20	97.75	1.26	88.19	1.25	93.90	2.85	90.16	1.65	86.24	1.89
嘧菌酯	2	78.66	2.75	91.83	3.37	82.61	1.75	96.19	5.43	80.08	2.56
	10	88.04	2.50	93.49	1.48	90.01	2.90	93.64	2.05	86.39	3.01
	20	96.23	1.91	95.20	1.47	82.95	3.18	97.49	1.83	81.23	1.07
肟菌胺	2	83.92	2.45	78.81	4.95	85.42	2.48	81.03	4.36	86.56	3.02
	10	96.01	3.44	104.98	1.93	86.19	2.89	93.62	2.16	80.21	2.08
	20	97.93	2.08	83.98	1.75	93.99	3.25	82.36	1.26	79.99	4.01
醚菌胺	2	86.61	3.26	91.08	2.90	78.18	1.87	86.56	3.96	79.48	3.94
	10	84.42	2.37	87.64	2.95	88.66	2.42	89.65	1.52	82.16	3.06
	20	96.47	1.53	83.19	1.94	90.41	1.38	83.30	0.98	83.26	2.95
啶氧菌酯	2	81.93	0.86	93.61	3.39	78.92	3.81	95.21	3.89	77.26	3.87
	10	89.81	2.11	83.49	2.45	80.90	1.94	86.79	2.13	79.00	2.65
	20	94.69	3.88	100.64	1.77	84.82	4.73	93.12	1.63	81.45	1.47
吡唑醚菌酯	2	96.30	1.71	87.00	2.66	86.95	2.70	86.45	3.66	84.26	2.58
	10	91.83	1.37	94.53	1.73	98.05	1.83	96.63	1.42	86.93	1.69
	20	97.81	1.25	101.47	2.90	92.51	2.94	85.49	2.96	90.23	2.14
肟菌酯	2	85.23	2.65	87.51	3.03	80.87	2.87	89.29	6.59	85.95	2.36
	10	86.57	1.62	93.11	1.62	91.99	4.10	86.53	4.21	87.49	3.94
	20	97.93	0.50	95.98	3.85	81.11	1.66	86.32	3.22	84.51	4.86
啶螨酯	2	83.28	1.29	88.44	3.32	77.76	5.40	83.21	5.32	83.12	2.73
	10	82.20	1.69	83.68	2.10	84.13	0.73	81.08	2.96	86.98	0.91
	20	94.29	1.25	83.94	1.50	93.73	2.65	79.56	3.67	91.47	1.82

77.26%~111.73% 之间, 相对标准偏差在 0.46%~6.59% 之间。

## 2.7 实际样品测定

参照 1.2.2 样品制备、提取和净化的方法, 对市售的 25 批蔬菜(结球甘蓝 6 批、芹菜 5 批、土豆 6 批、菠菜 4 批、甜椒 4 批)进行了检测, 未发现相关甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。

## 3 结论

本文通过正交试验优选 QuEChERS 最佳提取净化剂组合, 并分析了基质效应对目标化合物的影响。确定以石墨化炭黑的质量为 15 mg, C<sub>18</sub> 的质量为 150 mg, PSA 的质量为 200 mg 为最佳提取净化剂组合, 结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)方法检测, 建立了蔬菜中 9 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留量的测定方法。使用本方法对市售蔬菜进行检测, 未检出相关甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。该方法操作简单、快速、成本低廉, 具有较好的准确度、灵敏度和精密度, 减少了有机溶剂的使用, 同时降低了方法检出限和定量限, 为蔬菜中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留的快速筛查和定量分析检测提供了可靠的技术支持。

### 参考文献

[1] 朱峰, 于洁, 刘华良, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法检测青菜中 214 种农药残留[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(1): 25-31.

[2] 黄婷, 易吉平, 曾明. 农药除草剂雄性生殖毒性研究进展[J]. 实用预防医学, 2015, 22(4): 508-510.

[3] Khan Z, Kamble N, Bhongale A, et al. Analysis of pesticide residues in *Tuber* crops using pressurised liquid extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 250-257.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 中华人民共和国农业部, 国家食品药品监督管理总局. GB 2763-2019 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.

[5] 赵平, 严秋旭, 李新, 等. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的开发及抗性发展现状[J]. *农药*, 2011, 50(8): 547-551, 572.

[6] 王璐芳, 李春梅, 许佳彬, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定不同植被类型土壤中 11 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂[J]. *色谱*, 2018, 36(8): 730-737.

[7] 何秀玲. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂 Mandestrobin[J]. *世界农药*, 2016, 38(4): 62-63.

[8] Yang X, Zhang H, Liu Y, et al. Multiresidue method for determination of 88 pesticides in berry fruits using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry: Determination of 88 pesticides in berries using SPE and GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(1): 855-865.

[9] 李建勋, 孙梦园, 胡雪艳, 等. 顶空固相萃取结合气相色谱-三重四极杆质谱法快速测定茶叶中 11 种酰胺类除草剂残留[J].

*分析测试学报*, 2017, 36(11): 1339-1345.

[10] 许秀敏, 龙朝阳, 黄伟雄, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时快速检测果蔬中 35 种甲氧基丙烯酸酯类和三唑类杀菌剂的残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(4): 1039-1047.

[11] 李海畅, 方志青, 邹云云, 等. QuEChERS-气相色谱质谱联用检测辣椒中 33 种农药残留[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(14): 137-143.

[12] 张彦军, 洪霞, 钱滢文, 等. QuEChERS-气相色谱质谱联用法测定辣椒中的咪鲜胺及 2, 4, 6-三氯苯酚残留量[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(16): 95-99.

[13] 吴洁珊, 冯家望, 任永霞, 等. 气相色谱测定柑橘中多种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的残留量[J]. *农药*, 2011, 50(10): 754-755, 766.

[14] 张瑶, 孙谦, 马桂娟, 等. GC/MS/MS 法测定水果中 10 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留量[J]. *环境化学*, 2019, 38(5): 1204-1206.

[15] 郑兆娜, 寿森钧, 裴晓华, 等. 快速溶剂萃取-气相色谱质谱联用法测定大米中 6 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留[J]. *分析仪器*, 2019(2): 51-56.

[16] 薄海波, 王金花, 郭春海, 等. 气相色谱/质谱法测定食品中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留[J]. *分析化学*, 2008, 36(11): 1471-1475.

[17] 王云凤, 葛宝坤, 高建会, 等. 液相色谱-质谱法测定果蔬中 8 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留量[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(4): 130-133.

[18] 周瑶, 杨惠琴, 时逸吟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测水果中 6 种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂及其质谱裂解规律[J]. *色谱*, 2017, 35(9): 970-979.

[19] 国家卫生和计划生育委员会, 农业部, 国家食品药品监督管理总局. GB 23200.54-2016 食品安全国家标准 食品中甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂残留量的测定气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[20] 郝欢欢, 杨奕, 张晶, 等. 大气压气相色谱电离源-串联质谱法测定蔬菜中 23 种农药残留[J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(1): 31-38.

[21] 刘亚伟, 董一威, 孙宝利, 等. QuEChERS 在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2009, 30(9): 285-289.

[22] 黄诚, 郭梅. 正交试验法优选黄瓜中拟除虫菊酯类农残检测的净化剂组合[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(5): 438-440.

[23] Dong F S, Chen X, Liu X G, et al. Simultaneous determination of five pyrazole fungicides in cereals, vegetables and fruits using liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1262: 98-106.

[24] 刘进奎, 秦珊珊, 冯书惠, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食用菌中农药多残留的基质效应[J]. *食品科学*, 2016, 37(18): 171-177.

[25] 汪传炳, 黄秀根, 樊晓青, 等. 微量叠加定量法校准蔬菜农药残留色谱分析中的基质效应[J]. *上海农业学报*, 2013, 29(4): 36-41.